

09/700879

PCT/JP99/02600

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

19.05.99

JP99/2600

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1998年 5月20日

出願番号

Application Number:

平成10年特許願第138329号

出願人

Applicant (s):

中外製薬株式会社

REC'D 09 JUL 1999

WIPO PCT

PRIORITY

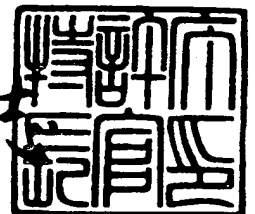
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 6月17日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

山佐 建



出証番号 出証特平11-3041098

【書類名】 特許願

【整理番号】 980817

【提出日】 平成10年 5月20日

【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿

【国際特許分類】 C08B
A61K

【発明の名称】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸
との結合体

【請求項の数】 12

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会
社内

【氏名】 田村 達也

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会
社内

【氏名】 岡町 晃

【特許出願人】

【識別番号】 000003311

【氏名又は名称】 中外製薬株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089705

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル2
06区 ユアサハラ法律特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 社本 一夫

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100071124

【弁理士】

【氏名又は名称】 今井 庄亮

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠式

【選任した代理人】

【識別番号】 100075236

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗田 忠彦

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100104477

【弁理士】

【氏名又は名称】 藍原 誠

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705604

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸との結合体

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 (1) 1 種以上のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と
(2) ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との共有結合体。

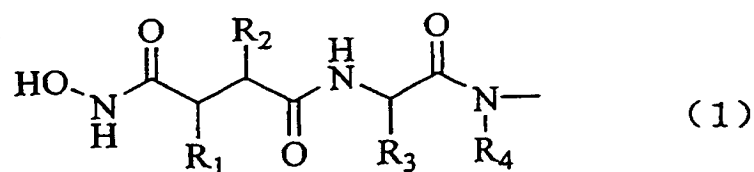
【請求項 2】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤がスペーサーを介してヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩と結合している請求項 1 記載の共有結合体。

【請求項 3】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の重量割合が、共有結合体全体に対して 0.01～50%である、請求項 1 又は 2 に記載の共有結合体。

【請求項 4】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤がヒドロキサム酸残基である、請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の共有結合体。

【請求項 5】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤が、一般式 (1) :

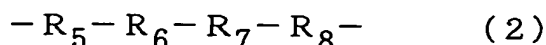
【化 1】



〔式中、 R_1 は、水素原子、水酸基、又は炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_2 は、炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_3 は、シクロアルキル基、アリール基もしくは複素環基で置換されていてもよい炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_4 は、水素原子、又は炭素数 1～4 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。〕

で表されるヒドロキサム酸残基である、請求項 1 から 4 の何れか 1 項に記載の共有結合体。

【請求項 6】 スパースが、一般式 (2) :

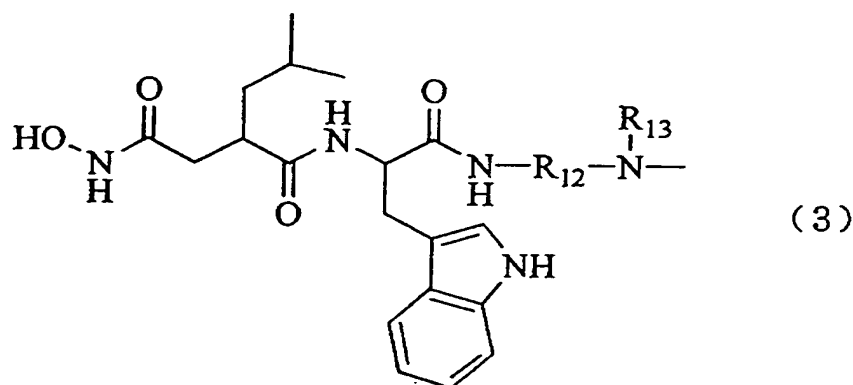


〔式中、 R_5 は、炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し； R_6 は、炭素数 1～4 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基で置換されていてもよいメチレン基もしくはイミノ基、または酸素原子を表し； R_7 は、炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し； R_8 は、酸素原子、硫黄原子、又は NR_9 (ここで、 R_9 は、水素原子、又は炭素数 1～4 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す) を表す。〕

で表される、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の共有結合体。

【請求項 7】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とスパースとの結合体が、一般式 (3) :

【化 2】



〔式中、 R_{12} は、炭素数 3～17 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基又は—(炭素数 1～8 のアルキレン基)—O—(炭素数 1～8 のアルキレン基)—で表される基を表し； R_{13} は、水素原子、又は炭素数 1～4 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。〕

で表される、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の共有結合体。

【請求項 8】 生体内においてマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤がヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩と結合した状態でマトリックスメタロプロテアーゼを阻害する、請求項 1 から 7 の何れか 1 項に記載の共有結合体。

【請求項 9】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤中の活性に影響を及ぼさない部位と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩のカルボキシル基、水酸基または還元末端の官能基とを、直接の化学反応によって又はスパーサーを介して結合させることを含む、請求項 1 から 8 の何れか 1 項に記載の共有結合体の製造方法。

【請求項 10】 請求項 1 から 8 の何れか 1 項に記載の共有結合体を含む医薬。

【請求項 11】 関節疾患治療薬である、請求項 10 に記載の医薬。

【請求項 12】 関節疾患が変形性関節症、慢性関節リウマチ又は肩関節周囲炎である、請求項 11 に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤を結合させたヒアルロン酸又はその誘導体又はそれらの塩に関する。さらに詳細には、本発明は、変形性関節症、慢性関節リウマチ等の治療に有効な、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と、ヒアルロン酸又はその誘導体又はそれらの塩とを化学的に共有結合させた共有結合体、その製造方法並びに上記共有結合体を含む医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

関節軟骨は約 70% の水分と、軟骨細胞および軟骨マトリックスとから構成されている。軟骨マトリックスを構成する主成分はコラーゲンとプロテオグリカンであり、網目構造を有するコラーゲンのネットワークに水分保持能に富むプロテオグリカンが含有されている。軟骨マトリックスは粘弾性に富み、軟骨にかかる刺激や負荷を軽減して、関節軟骨が正常な形態と機能を保持する上で重要な役割を果たしている。

【0003】

変形性関節症(以下、OAとも称す)と慢性関節リウマチ(以下、RAとも称す)は、共に軟骨マトリックスの破壊を伴う代表的な疾患である。両疾患におけるマ

トリックスの破壊は、OAでは加齢に伴うメカニカルストレス、RAでは滑膜表層細胞の過剰増殖、パンプス形成、炎症性細胞の浸潤などが引き金となり、いずれもプロテアーゼの誘導を介して惹起されると考えられている。軟骨マトリックスの分解は中性のpHを持つ細胞外で行われることから、この領域のpHを至適とするマトリックスメタロプロテアーゼ（以下、MMPとも称す。総称として用いる時にはMMPsとも称す）が分解の中心的な担い手と言われている。

【0004】

現在までに、MMPファミリーに属するものとして、ヒトでは16種類のプロテアーゼが報告されており、それらと結合して活性を阻害する組織メタロプロテアーゼインヒビター（以下、TIMPとも称す。総称として用いる時は、TIMPsとも称す）と呼ばれる生体内タンパク質も4種類が見いだされている。MMPsは生理的条件下では発生、血管新生、性周期、骨リモデリング、組織修復などさまざまな機能を担っている。これらの機能が適切に発現されるよう、MMPsの産生、活性化および基質との相互作用の各段階はTIMPs等によって厳密にコントロールされている。換言すれば、病態でのマトリックスの破壊は、MMPsの調節機構に何らかの破綻が生じ、MMPsが過剰に産生、活性化されたことに起因すると考えられる。

【0005】

それゆえ、MMPsを阻害する薬物は、OAやRA等の関節疾患における軟骨マトリックスの破壊を抑制する薬物として極めて有望である。MMPsを阻害する薬物はこれまでも数多く報告されているが、阻害活性の強さとMMPsへの特異性の高さからヒドロキサム酸であるMMP阻害剤が、現在、最も注目されている。既に経口投与でもMMP阻害作用を発揮するヒドロキサム酸が見いだされており、そのうちのいくつかは癌患者や関節炎患者を対象に、臨床試験が開始されている。

【0006】

しかし、この種のMMP阻害剤は、程度の差こそあれ、すべてのMMPsに対する阻害作用を持ち、生理的な機能に関わるMMPsをも抑制してしまうという重大な欠点がある。事実、癌患者を対象に進行中のヒドロキサム酸の臨床試験で

は、一過性ながら骨筋肉痛などの副作用が報告されている。最近では、特定のMMPsへの特異性を高めた改良品の開発も進められているが、未だ病態のみに関与するMMPsは見いだされていない。また、続々と新規なMMPsが発見されていることから、全身投与時にはMMPsの何らかの生理作用を抑制してしまう可能性が依然として残る。

【0007】

上記問題点を解消する試みとしては、第1に、ヒドロキサム酸の関節腔内への局所投与が考えられる。しかし、ヒドロキサム酸の局所濃度を維持するためには、頻回の投与が必要となり、長期の投与を余儀なくされるOAやRAの患者では、極めて困難である。他の試みとしては、ヒドロキサム酸を標的部位にのみ限定的に局在させる、いわゆるドラッグデリバリーシステムの使用が考えられる。しかし、従来技術では投与されたヒドロキサム酸を罹患関節内に限定的に局在または貯留させる方法は確立されていない。

このように、ヒドロキサム酸は優れた薬理作用を有しながらも、OAやRAのような慢性疾患の治療薬として臨床応用するためには、依然として解決すべき問題点が存在する。

【0008】

一方、現在、関節疾患、特にOAや肩関節周囲炎においては、ヒアルロン酸（以下、HAとも称す）及びその架橋物（以下、ヒアルロン酸とその架橋物を総称してHA製剤とも称す）の関節内注入療法が臨床的に広く行われている。

【0009】

ヒアルロン酸（HA）は、N-アセチルグルコサミンとグルクロン酸との繰り返し単位より構成される生体内多糖であり、関節液を構成する主成分として関節液の粘弾性、荷重吸収作用および潤滑作用の保持に重要な働きを果たしている。また、HAは、軟骨マトリックスにおいて、軟骨プロテオグリカンと結合して、アグリカンと呼ばれる重合体を形成し、軟骨基質の水分保持能と粘弾性を維持する中心的な役割を担っている。

【0010】

一般に、HA製剤は、MMPsを阻害する作用はないものの、潤滑剤として、

更には関節でのHA産生を促進するなどにより、関節機能の障害を緩和する作用を有すると言われている。HAは元々、細胞外マトリックスの構成成分でもあることから細胞外マトリックスに高い親和性を有し、またそれ自身高い粘弾性を有することから、関節内に注入された後、関節腔内に長時間局在する特徴を有している。実際、 ^{14}C 標識HAを用いた実験では、ウサギ膝関節腔内に投与された ^{14}C 標識HAは、関節液、滑膜組織、関節軟骨の表層などに分布し、それらの組織から消失するのに3日間以上を要すると報告されている。また、HAは関節液中では分解を受けず、滑膜組織や関節軟骨では一部が分解されるものの、大半は徐々に滑膜を介して血中に移行し、肝臓にて低分子化を受けると言われている。

【0011】

また、HA製剤に何らかの薬物を結合させた後、生体内に投与すれば、その薬物はHA製剤と共に特定部位に長時間貯留し、薬物単独を投与した場合に比べ、特定部位での薬物の作用時間は、大幅に延長することが期待される。また、こうした効果により、薬物の投与量、投与回数は従来の投与方法に比べ著しく低減でき、結果的に副作用を大幅に軽減させることが可能となることが期待される。

【0012】

HAと薬物との結合体としては、これまでに、特開平5-85942号公報記載のインターフェロナーヒアルロン酸結合体、WO92/06714号公報記載のヒアルロン酸-抗癌剤結合物質、特開昭62-64802号公報記載のヒアルロン酸-コルチコステロイド結合体、及び特許第2701865号公報記載のヒアルロン酸-抗生物質共役結合体等が知られている。

【0013】

しかし、これらの例では殆どの場合、HAが低分子化を受けるか、HAと薬物の結合が加水分解を受けるなどして薬物が遊離し、その薬物が標的細胞または組織に取り込まれてはじめて薬効が発現する。従って、HAがほとんど分解を受けない関節腔内などでは、薬物がHAと結合した状態でも薬効を発現しうる結合体を開発することが重要である。

【0014】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的の一つは、MMP 阻害剤、特にヒドロキサム酸を関節腔内に貯留させることのできる、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との共有結合体を提供することである。

本発明の別の目的は、上記共有結合体の製造方法を提供することである。

本発明のさらに別の目的は、上記共有結合体を含む医薬を提供することである。

【0015】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、MMP 阻害作用を有するヒドロキサム酸が人工的な多糖の一種であるアガロースにカップリングした場合でも、MMP s への結合能を保持していることを証明した例があること、並びに、これまで発見された全ての MMP s が細胞外あるいは細胞表層で機能を発現する酵素であることに着目し、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、MMP 阻害剤を HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩に化学的に結合させることによって作製される共有結合体、例えばヒドロキサム酸と HA 製剤との共有結合体は、両者が結合したままの状態でも MMP 阻害作用を発現しうる可能性があることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0016】

さらにまた、関節腔内に投与された MMP 阻害剤と HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩との共有結合物は、HA 製剤同様、関節腔内に長期間貯留し、MMP 阻害剤に伴う全身性の副作用を軽減すると共に、関節炎治療薬としての HA の薬効を保持しうることを、すなわち、局所において両者相俟った相乗的な薬効が期待でき、生物学的有用性が改善された薬剤となりうることを見だし、本発明を完成するに至った。

【0017】

即ち、本発明の第 1 の側面によれば、(1) 1 種以上のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と (2) ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との共有結合体が提供される。

【0018】

本発明の共有結合体の一つの態様では、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤はスパーサーを介してヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩と結合している。

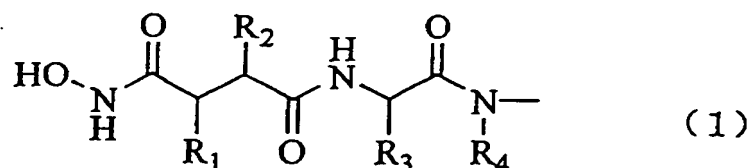
本発明の共有結合体において、共有結合体全体に対するマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の重量割合には特に制限はないが、好ましくは0.01～50%、特に好ましくは0.1～10%である。

【0019】

本発明の共有結合体において好ましくは、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤はヒドロキサム酸残基である。

マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤は特に好ましくは、一般式(1)：

【化3】

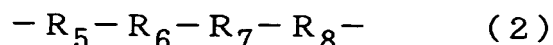


〔式中、 R_1 は、水素原子、水酸基、又は炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_2 は、炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_3 は、シクロアルキル基、アリール基もしくは複素環基で置換されていてもよい炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_4 は、水素原子、又は炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。〕

で表されるヒドロキサム酸残基である。

【0020】

本発明の共有結合体においては、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸成分との間にスパーサーが存在する場合、スパーサーは特に好ましくは、一般式(2)：



〔式中、 R_5 は、炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し；

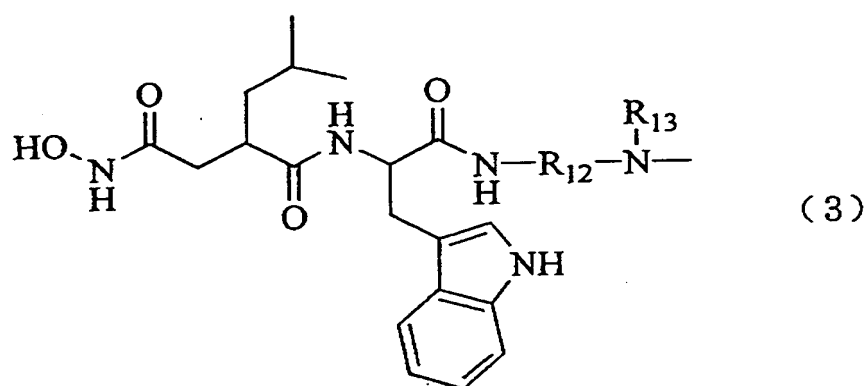
R_6 は、炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基で置換されていてもよいメチレン基もしくはイミノ基、または酸素原子を表し； R_7 は、炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し； R_8 は、酸素原子、硫黄原子、又は NR_9 （ここで、 R_9 は、水素原子、又は炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す）を表す。]

で表される。

【0021】

本発明の共有結合体において、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とスパーサーとの結合体の特に好ましい具体例は、一般式（3）：

【化4】



〔式中、 R_{12} は、炭素数3～17の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基又は—（炭素数1～8のアルキレン基）—O—（炭素数1～8のアルキレン基）—で表される基を表し； R_{13} は、水素原子、又は炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。〕

で表される。

【0022】

また本発明の共有結合体を生体に投与した場合、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤はヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩と結合した状態でマトリックスメタロプロテアーゼを阻害することができる。

【0023】

本発明の第2の側面によれば、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤中の活

性に影響を及ぼさない部位と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩のカルボキシル基、水酸基または還元末端の官能基とを、直接の化学反応によって又はスペーサーを介して結合させることを含む、本発明の共有結合体の製造方法が提供される。即ち、上記の製造方法においては、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤中の活性に影響を及ぼさない部位と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩のカルボキシル基、水酸基または還元末端の官能基とを、直接の化学反応によって結合させること、あるいは、結合反応を行う時、MMP阻害剤とスペーサーの先端にある反応点との間に空間が生じるため、MMP阻害剤の立体的影響を受けることなくHA又はHA誘導体又はそれらの塩と反応すること、及び／又は、結合体において、HA又はHA誘導体又はそれらの塩とMMP阻害剤との間に空間が生じるため、MMPがHA又はHA誘導体又はそれらの塩の立体的影響を受けることなくMMP阻害剤に近づくこと、すなわち、MMP阻害活性が結合した状態でも維持されること等を期待して、スペーサーを介して結合させることが含まれる。

【0024】

本発明の第3の側面によれば、本発明の共有結合体を含む医薬が提供される。

本発明の医薬は、特に関節疾患の治療薬、さらに具体的には変形性関節症、慢性関節リウマチ又は肩関節周囲炎の治療薬である。

【0025】

【発明の実施の形態】

本発明において、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）阻害剤とは、任意の生体（好ましくは哺乳類、特に好ましくはヒト）由来の任意のマトリックスメタロプロテアーゼの活性を、例えばそれに結合すること等により、阻害することができる全ての物質を意味する。

【0026】

より具体的には、MMP阻害剤とは、カルボン酸、リン酸、チオール、ヒドロキサム酸等の官能基を介してMMPの活性中心の亜鉛に結合することで酵素阻害活性を発揮する化合物またはタンパク質（ポリペプチドを含む）を意味し、また

、MMPsあるいは、分子中にディスインテグリンとMMP様のドメインを併せ持つタンパク分解酵素（例えば、TNF α 変換酵素、あるいはディスインテグリン-メタロプロテアーゼファミリー（ADAM）に属する一群のプロテアーゼ）の酵素活性の発現を阻害するものを意味する。これらのMMP阻害剤は、その阻害活性として、S.C.Cruwysらの方法（Br. J. Pharmacol, 100, 631-635(1990)に記載）による軟骨細胞や滑膜細胞によって惹起されるコラーゲンの分解、あるいは、M.DiMartinoらの方法（Inflamm. Res., 46, 211-215(1997)に記載）によるヒト末梢白血球から遊離されるTNF α の遊離に対して、10mg/ml以下のいずれかの濃度で50%以上の抑制を示すことを特徴とする。さらに、その構造式中に化学修飾を施しても、上記2種類の阻害活性のいずれかが、10mg/ml以下のいずれかの濃度で45%以上の抑制を示していれば、そのような化学修飾された阻害剤も含まれる。

【0027】

MMP阻害剤の非限定的具体例としては、テトラサイクリン系化合物（テトラサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、及びテトラサイクリンの化学修飾体（例えばCMT1~4；コラゲネックス）等が挙げられる）、TIMPs、及びヒドロキサム酸等が挙げられ、MMP阻害活性の強さとMMPsへの特異性の高さの点から、好ましくはヒドロキサム酸が挙げられる。

このようなMMP阻害剤の例は、例えば、特公平9-80825号公報、特許第2736285号公報、及びドラッグ・ディスカバリー・トゥデイ、第1巻、16~26頁（1996年）等に記載されている。

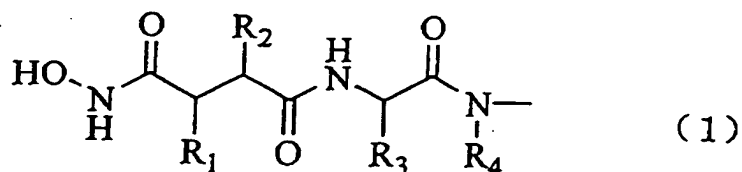
【0028】

ヒドロキサム酸とは、N-ヒドロキシアミド基を有する化合物を意味し、非限定的具体例としては、AG-3340（アグロン（Agouron））、CDP-845（ゼネカ）、CGS-27023A（ノバルティス）、D5410（カイロサイエンス）、L758354（メルク）、CH-138（カイロサイエンス）、マリマスタット（Marimastat、登録商標、ブリティッシュバイオテック）、ガラルディン（Galardin、登録商標、グリコメッド）、Ro31-9790（ロシュ）、及びRo32-3555（ロシュ）等が挙げられる。また本発明の共有結合体

中のヒドロキサム酸残基の非限定的具体例としては、

例えば一般式 (1) :

【化 5】



〔式中、 R_1 は、水素原子、水酸基、又は炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_2 は、炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_3 は、シクロアルキル基、アリール基もしくは複素環基で置換されていてもよい炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表し； R_4 は、水素原子、又は炭素数 1～4 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。〕

で示されるヒドロキサム酸残基が挙げられる。

【0029】

一般式 (1) で示される MMP 阻害剤であるヒドロキサム酸残基の定義において、 R_1 の非限定的具体例としては、水素原子、水酸基、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、*n*-ヘプチル基、*n*-オクチル基等が挙げられるが、好ましくは水素原子である。

【0030】

R_2 の非限定的具体例としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、*n*-ヘプチル基、*n*-オクチル基等が挙げられるが、好ましくはイソブチル基である。

【0031】

R_3 における、シクロアルキル基、アリール基もしくは複素環基で置換されていてもよい炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状アルキル基の炭素数 1～8 の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基中のアルキル基成分の非限定的具体例としては

、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、*n*-ヘプチル基、*n*-オクチル基等が挙げられるが、好ましくは、メチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基である。

【0032】

また、上記アルキル基上に存在していてもよいシクロアルキル基、アリール基もしくは複素環基の非限定的具体例としては；

炭素数 3～10、好ましくは炭素数 5～7 のシクロアルキル基（例えば、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、又はシクロヘプチル基等）；

水酸基、メトキシ基等の置換基を有していてもよい炭素数 6～20、好ましくは炭素数 6～14 のアリール基（例えば、フェニル基、*p*-ヒドロキシフェニル基、又はナフチル基等）；並びに

窒素原子、硫黄原子又は酸素原子の中から選択される同一又は異なる 1 個以上、好ましくは 1 から 3 個、特に好ましくは 1 個のヘテロ原子を含む、原子数 5～20、好ましくは原子数 5～10、特に好ましくは原子数 5、6、9 又は 10 の飽和又は不飽和の複素環（例えば、ピリジル基、キノリル基、又は 3-インドリル基等；特に好ましくは 3-インドリル基）が挙げられる。

【0033】

代表的には、 R_3 は、アリール基もしくは複素環基で置換されている炭素数 1～5 の直鎖状のアルキル基が好ましく、なかでもベンジル基、*p*-ヒドロキシベンジル基、3-インドリルメチル基が特に好ましく、3-インドリルメチル基が最も好ましい。

【0034】

R_4 の非限定的具体例としては、水素原子、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基が挙げられるが、好ましくは水素原子である。

【0035】

一般式 (1) で示されるヒドロキサム酸残基は 1 個以上の不斉炭素中心を含むが、各不斉炭素中心について、その絶対配置が R 配置及び S 配置のいずれのもの

も、本発明に含まれる。

【0036】

マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の重量割合は、結合体全体に対して好ましくは0.01～50%であり、特に好ましくは0.1～10%である。

【0037】

本発明において、「ヒアルロン酸(HA)」とは、重量平均分子量100,000～10,000,000を有する、グルクロン酸とN-アセチルグルコサミンとから成る二糖の重合体、並びにこれらの混合物を意味する。ヒアルロン酸は、粘弾性の強さの点から、重量平均分子量700,000～10,000,000を有するヒアルロン酸が好ましく、重量平均分子量1,000,000～10,000,000のヒアルロン酸が特に好ましい。

【0038】

本発明において「ヒアルロン酸誘導体」とは、ヒアルロン酸から誘導されるヒアルロン酸骨格を有する全ての物質を意味する。ヒアルロン酸誘導体の非限定的具体例としては；

- (1) 糖成分であるグルクロン酸及び／又はN-アセチルグルコサミンが還元末端を有しているヒアルロン酸誘導体；
- (2) ヒアルロン酸中の1以上の水酸基がアセチル化されているアセチル化ヒアルロン酸；
- (3) 重量平均分子量100,000～10,000,000を有するグルクロン酸とN-アセチルグルコサミンとからなる二糖の重合体を、ホルムアルデヒドで架橋してさらに高分子化した誘導体(例えば、シンビスク(Synvisc、登録商標、バイオマトリックス)；並びに
- (4) 本明細書中上記したヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体に1以上の薬効成分、例えば制癌剤(例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤、アルカロイド等が挙げられる)、免疫抑制剤、抗炎症剤(ステロイド剤、非ステロイド系抗炎症剤等が挙げられる)、抗リウマチ剤、抗菌剤(β -ラクタム系抗生物質、アミノグリコシド系抗生物質、マクロライド系抗生物質、テトラサイクリン系抗生物質、新キノロン系抗生物質、ポリペプチド系抗生物質、サルファ剤等が挙げられる)

などを、スパーサーを介して又は介さずに結合させることによって得られる誘導体：

等が挙げられる。

【0039】

ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体の塩の非限定的具体例としては、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、アルミニウム塩などを挙げることができる。

【0040】

HAの由来には特に制限はないが、例えば、放線菌等のバクテリア、ヒト、ブタ、ニワトリ等に由来するHAを使用できる。

【0041】

HA及びそれらの塩の非限定的具体例としては、例えば、スベニール（登録商標、日本ルセル）、アルツ（登録商標、科研製薬）、オペガン（登録商標、参天製薬）、ヒアルガン（登録商標、フィーディア）、オルトビスク（登録商標、アニカセラピューティックス）、ヒアロン（登録商標、ファルマシア&アップジョン）等を挙げることでき、また、和光純薬工業（株）等の各種試薬メーカーのカタログに記載のHA及びこれらの塩を挙げることにもできる。

【0042】

本発明の結合体においては、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩とは、スパーサーを介して又は介さずに結合している。マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との間の結合様式としては、スパーサーを介さない場合にはアミド結合、エーテル結合等の共有結合が挙げられ、あるいはスパーサーを介して共有結合している。好ましくは、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩とは、スパーサーを介して結合している。

【0043】

マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩とがスパーサーを介さずに結合している場合、これらの両者は

それらの活性を損なわない部位で共有結合している。また、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩とがスパーサーを介して結合している本発明の好ましい態様においては、スパーサーとMMP阻害剤、並びにスパーサーとHA又はHA誘導体又はそれらの塩は、MMP阻害剤及びHA又はHA誘導体又はそれらの塩が、その活性を損なわない部位でスパーサーと、それぞれ共有結合している。

【0044】

そのような活性を損なわない部位としては、MMP阻害剤においては、例えば、アミノ基、カルボキシル基、水酸基、及びチオール基等が挙げられる。また、MMP阻害剤が一般式(1)で表されるヒドロキサム酸残基である本発明の好ましい態様の場合、その末端に位置する1級もしくは2級のアミノ基が挙げられる。HA又はHA誘導体又はそれらの塩においては、例えば、水酸基又はカルボキシル基が挙げられるが、好ましくはカルボキシル基である。

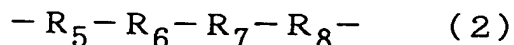
【0045】

MMP阻害剤とHA又はHA誘導体又はそれらの塩、スパーサーとMMP阻害剤、並びにスパーサーとHA又はHA誘導体又はそれらの塩との間の共有結合の種類は特に限定されないが、例えば、アミド結合、エーテル結合、エステル結合、スルフィド結合が挙げられる。

HA又はHA誘導体又はそれらの塩に結合するMMP阻害剤は1種である必要はなく、2種以上の異なるMMP阻害剤であってもよい。また、1つの結合体にスパーサーを介した結合部位とスパーサーを介さない結合部位とを有することを妨げない。さらには、1つの結合体中に存在するスパーサーが同一である必要もない。

【0046】

スパーサーの種類は、MMP阻害剤とHA又はHA誘導体又はそれらの塩の活性に重大な影響を及ぼさない限り特に限定されず、その非限定的具体例としては、例えば一般式(2)：



〔式中、 R_5 は、炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し；

R_6 は、炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基で置換されていてもよいメチレン基もしくはイミノ基、または酸素原子を表し； R_7 は、炭素数1～8の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基を表し； R_8 は、酸素原子、硫黄原子、又は NR_9 （ここで、 R_9 は、水素原子、又は炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す）を表す。］で示されるスペーサーが挙げられる。

上記一般式（2）で示されるスペーサーは、 R_5 -末端でMMP阻害剤と結合し、 R_8 -末端でHA又はHA誘導体又はそれらの塩と結合する。

【0047】

一般式（2）で示されるスペーサーの定義において、 R_5 の非限定的具体例としては、メチレン基、エタン-1，2-ジイル基、プロパン-1，3-ジイル基、ブタン-1，4-ジイル基、ペンタン-1，5-ジイル基、ヘキサン-1，6-ジイル基、ヘプタン-1，7-ジイル基、オクタン-1，8-ジイル基、2-メチルペンタン-1，3-ジイル基、2-メチルブタン-1，4-ジイル基、3-メチルブタン-1，4-ジイル基、3-メチルペンタン-1，5-ジイル基、3-エチルペンタン-1，5-ジイル基、3-メチルヘキサン-1，6-ジイル基、4-メチルヘキサン-1，6-ジイル基、4-メチルヘプタン-1，7-ジイル基などが挙げられ、好ましくはエタン-1，2-ジイル基、プロパン-1，3-ジイル基、ブタン-1，4-ジイル基である。

【0048】

R_6 における、炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基で置換されていてもよいメチレン基もしくはイミノ基の、炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*s*-ブチル基、*t*-ブチル基等が挙げられる。

【0049】

代表的には R_6 は、炭素数1～3の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基で置換されていてもよいメチレン基、及び酸素原子が好ましく、メチレン基、及び酸素原子が特に好ましい。

【0050】

R_7 の非限定的具体例としては、メチレン基、エタン-1，2-ジイル基、ブ

ロパン-1, 3-ジイル基、ブタン-1, 4-ジイル基、ペンタン-1, 5-ジイル基、ヘキサン-1, 6-ジイル基、ヘプタン-1, 7-ジイル基、オクタン-1, 8-ジイル基、2-メチルペンタン-1, 3-ジイル基、2-メチルブタン-1, 4-ジイル基、3-メチルブタン-1, 4-ジイル基、3-メチルペンタン-1, 5-ジイル基、3-エチルペンタン-1, 5-ジイル基、3-メチルヘキサン-1, 6-ジイル基、4-メチルヘキサン-1, 6-ジイル基、4-メチルヘプタン-1, 7-ジイル基などが挙げられ、好ましくはエタン-1, 2-ジイル基、プロパン-1, 3-ジイル基、ブタン-1, 4-ジイル基などが挙げられる。

【0051】

R_8 の非限定的具体例としては、酸素原子、硫黄原子、イミノ基、メチルイミノ基、エチルイミノ基、*n*-プロピルイミノ基、*i*-プロピルイミノ基、*n*-ブチルイミノ基、*sec*-ブチルイミノ基、イソブチルイミノ基、*t*-ブチルイミノ基が挙げられるが、好ましくはイミノ基またはメチルイミノ基などが挙げられ、特に好ましくはイミノ基である。

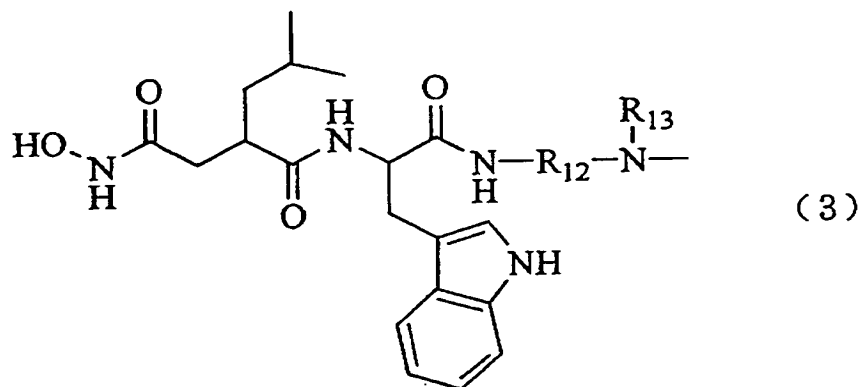
【0052】

一般式(2)で示されるスペーサーの好ましい具体例としては、 $-(CH_2)_4-NH-$ 、 $-(CH_2)_5-NH-$ 、 $-(CH_2)_6-NH-$ 、 $-(CH_2)_7-NH-$ 、 $-(CH_2)_8-NH-$ 、 $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-$ 等が挙げられる。

【0053】

さらに、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩とがスペーサーを介して結合している共有結合体において、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とスペーサーとの結合体の好ましい非限定的具体例としては、一般式(3)：

【化6】



[式中、 R_{12} は、炭素数3～17の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキレン基又は—(炭素数1～8のアルキレン基)— O —(炭素数1～8のアルキレン基)—で表される基を表し； R_{13} は、水素原子、又は炭素数1～4の直鎖もしくは分岐鎖状のアルキル基を表す。]

で示される結合体を挙げる事ができる。

【0054】

一般式(3)で示される結合体のうち、ヒドロキサム酸残基部分は、一般式(1)で示される好ましいMMP阻害剤の例と同一である。

また、 R_{12} の非限定的具体例としては、エタン-1, 2-ジイル基、プロパン-1, 3-ジイル基、ブタン-1, 4-ジイル基、ペンタン-1, 5-ジイル基、ヘキサン-1, 6-ジイル基、ヘプタン-1, 7-ジイル基、オクタン-1, 8-ジイル基、2-メチルペンタン-1, 3-ジイル基、2-メチルブタン-1, 4-ジイル基、3-メチルブタン-1, 4-ジイル基、3-メチルペンタン-1, 5-ジイル基、3-エチルペンタン-1, 5-ジイル基、3-メチルヘキサン-1, 6-ジイル基、4-メチルヘキサン-1, 6-ジイル基、4-メチルヘプタン-1, 7-ジイル基、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ などが挙げられ、好ましくはブタン-1, 4-ジイル基、ペンタン-1, 5-ジイル基、ヘキサン-1, 6-ジイル基、ヘプタン-1, 7-ジイル基、オクタン-1, 8-ジイル基、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ などが挙げられる。 R_{13} の非限定的具体例としては、水素原子、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基などが挙げられ

るが、好ましくは水素原子及びメチル基などが挙げられ、特に好ましくは水素原子が挙げられる。

【0055】

本発明の共有結合体の製造方法としては、例えば、MMP阻害剤中の、阻害剤としての活性に影響を及ぼさない部位（例えば、アミノ基、カルボキシル基、水酸基、及びチオール基等が挙げられる）と、HA又はHA誘導体又はそれらの塩のカルボキシル基、水酸基、又は還元末端由来のアルデヒド基とを、化学反応によって結合させる方法が挙げられる。これらは、既知の手法（新生化学実験講座第1巻タンパク質I（東京化学同人）、蛋白質・酵素の基礎実験法（南江堂）などに記載）で行うことができる。

具体的には、

- (1) 脱水縮合剤を用いて、MMP阻害剤あるいはHA又はHA誘導体又はそれらの塩中のカルボキシル基を活性化し、アミド結合、エステル結合またはチオエステル結合を形成させる方法；
 - (2) MMP阻害剤中の水酸基を臭化シアンを用いて活性化した後、HA又はHA誘導体又はそれらの塩中のアミノ基と結合させる方法、及びHA又はHA誘導体又はそれらの塩中の水酸基を臭化シアンを用いて活性化した後、MMP阻害剤中のアミノ基と結合させる方法；
 - (3) エピクロロヒドリン等のエピハロヒドリンもしくは1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテル等のジエポキシド、あるいは、トシルクロリドやトレスルクロリド等のスルホニルクロリドを用いて、MMP阻害剤あるいはHA又はHA誘導体又はそれらの塩中の水酸基を活性化し、エーテル結合やイミノ結合またはスルフィド結合を形成させる方法；並びに
 - (4) HA又はHA誘導体又はそれらの塩中の還元末端を還元して生じた1級水酸基を酸化してアルデヒド基として、MMP阻害剤中のアミンと還元的アルキル化を行う方法；
- などが挙げられる。

また、(1)から(4)の方法を二つ以上組み合わせた方法も含まれる。

【0056】

脱水縮合剤を用いて、MMP阻害剤あるいはHA又はHA誘導体又はそれらの塩中のカルボキシル基を活性化し、アミド結合やエステル結合またはチオエステル結合を形成させる方法の場合、一般の有機合成に用いられる縮合剤を用いることができるが、好ましくはカルボジイミド類、ホスホニウム類、ウロニウム類等を用いる。カルボジイミド類としては、ジイソプロピルカルボジイミド、ジシクロヘキシルカルボジイミド等の非水溶性カルボジイミド、及び1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド等の水溶性カルボジイミドがあり、ホスホニウム類としては、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、7-アザベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート等があり、ウロニウム類としては、O-ベンゾトリアゾール-1-イル-N, N, N, N-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート、O-7-アザベンゾトリアゾール-1-イル-N, N, N, N-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート等がある。

【0057】

また、これら縮合剤に反応促進性の添加剤を加えてもよい。添加剤として、N-ヒドロキシスクシンイミド、p-ニトロフェノール、ペンタフルオロフェノール、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、1-ヒドロキシー7-アザベンゾトリアゾール等が挙げられる。

【0058】

脱水縮合剤を用いて、MMP阻害剤あるいはHA又はHA誘導体又はそれらの塩中のカルボキシル基を活性化し、アミド結合やエステル結合またはチオエステル結合を形成させる方法の非限定的具体例である、水溶性カルボジイミドによる縮合法では、0.1~1% (重量/容量)のHA水溶液にカルボジイミドを加えた後、アミノ基を有するMMP阻害剤を加え、0~35℃で1~24時間反応させることができる。この間、塩酸やリン酸などの酸を添加し、反応液のpHを4~6に維持することもできる。

【0059】

MMP 阻害剤中の水酸基を臭化シアンを用いて活性化した後、HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩中のアミノ基と結合させる方法、及び HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩中の水酸基を臭化シアンを用いて活性化した後、MMP 阻害剤中のアミノ基と結合させる方法の非限定的具体例として挙げられるものを以下に記す：

HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩の水溶液に、臭化シアンを加え、0～10℃で5～30分間反応させる。この間、水酸化ナトリウムやリン酸緩衝液などで pH を 10～12 に維持することもできる。その後、アセトニトリルを加えて沈殿させ、過剰の臭化シアンを取り除き、再度水溶液とし、アミノ基を有する MMP 阻害剤を加え、4～25℃で1～24時間反応させる。この間、炭酸水素ナトリウムや水酸化ナトリウムなどで反応液の pH を 8～10 に維持することもできる。

【0060】

HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩中の還元末端を還元して生じた1級水酸基を酸化してアルデヒド基として、MMP 阻害剤中のアミンと還元的アルキル化を行う方法の非限定的具体例を以下に記す：

水素化ホウ素ナトリウムなどの還元剤で処理した後、過ヨウ素酸ナトリウムなどの酸化剤で処理することにより得られる、還元末端にアルデヒド基を有する HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩の水溶液に、アミノ基を有する MMP 阻害剤を加え、さらに、水素化シアノホウ素ナトリウムを加え、室温で1～24時間反応させる。この間、酢酸、塩酸、リン酸などの酸を加え、pH を 4～6 に維持することもできる。

【0061】

いずれの縮合法においても、反応後、反応液にエタノール、アセトン等の有機溶媒を加え沈殿させ、沈殿物を、アルコール沈殿、ゲルろ過、透析、イオン交換クロマトグラフィーなどの手段により精製することにより、目的とする共有結合体を得ることができる。

【0062】

本発明のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸との結合体を医薬として適用する場合、本発明の結合体は、薬学的に許容できる賦形剤、又は安定剤などと一緒に製剤化してから使用することが好ましい。

医薬の投与形態は特に限定されず、経口投与でも非経口投与でもよく、また、全身投与でも局所投与でもよい。一般的には、本発明の医薬は非経口的に局所投与するのが好ましく、例えば、注射剤として、関節内、静脈内、筋肉内又は皮下に投与することができ、あるいはスプレー剤、局所用クリーム又は軟膏として経皮的に投与することができる。

【0063】

本発明の医薬の投与量は、患者の症状、年齢、性別などに応じて適宜選択できるが、注射剤として用いる場合は一般的には、有効成分である結合体の量として $0.01 \text{ mg} / \text{体重 kg} / \text{日} \sim 100 \text{ mg} / \text{体重 kg} / \text{日}$ 、好ましくは $0.1 \text{ mg} / \text{体重 kg} / \text{日} \sim 10 \text{ mg} / \text{体重 kg} / \text{日}$ である。前記 1 日当たりの投与量の医薬は、一日に数回に分けて投与してもよいし、あるいは 1 日 1 回、または 2 日～28 日に 1 回投与してもよい。

【0064】

【発明の効果】

本発明の共有結合体は、例えば、投与された関節腔内において、通常の HA 製剤と同様に長期間貯留し、かつ、分子中のヒドロキサム酸は HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩に結合した状態で局所の MMP を阻害しうる。そのため、既存技術では成しえなかった MMP 阻害剤の投与部位（例えば、膝、肩等の関節が挙げられる）での作用の限局・長期化および投与回数の低減が可能であり、従来の全身投与に比べて、MMP 阻害剤の副作用を大幅に軽減することが期待される。

【0065】

また、投与部位において、HA 又は HA 誘導体又はそれらの塩の製剤成分と MMP 阻害剤成分の両者は、解離、分解を受けずにそれぞれの薬効を発現しうるので、両者の相乗的な薬効が期待できる。

【0066】

以上の点より、本発明の共有結合体は、MMP阻害剤（例えば、ヒドロキサム酸）とHA又はHA誘導体又はそれらの塩の両方の薬物としての有用性が改善された薬剤、例えば、関節破壊抑制作用が強化された薬剤として、優れた変形性関節症、慢性関節リウマチ又は肩関節周囲炎の治療薬となることが期待される。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 マトリックスメタロプロテアーゼ阻害薬、特にヒドロキサム酸を関節腔内に貯留させることのできる、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との共有結合体を提供すること。

【解決手段】 1種以上のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤とヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩との共有結合体；マトリックスプロテアーゼ阻害剤中の活性に影響を及ぼさない部位と、ヒアルロン酸又はヒアルロン酸誘導体又はそれらの塩のカルボキシル基、水酸基または還元末端の官能基とを、直接の化学反応によって又はスペーサーを介して結合させることを含む、上記共有結合体の製造方法；並びに上記共有結合体を含む医薬。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】
【識別番号】 000003311
【住所又は居所】 東京都北区浮間5丁目5番1号
【氏名又は名称】 中外製薬株式会社
【代理人】 申請人
【識別番号】 100089705
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 社本 一夫
【選任した代理人】
【識別番号】 100071124
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 今井 庄亮
【選任した代理人】
【識別番号】 100076691
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 増井 忠式
【選任した代理人】
【識別番号】 100075236
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 栗田 忠彦
【選任した代理人】
【識別番号】 100075270
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 小林 泰
【選任した代理人】
【識別番号】 100104477
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】 藍原 誠

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003311]

1. 変更年月日	1990年 9月 5日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都北区浮間5丁目5番1号
氏 名	中外製薬株式会社